

Cthrc1 は Wnt signaling を制御して平面内極性に関与する

平成 20 年 7 月 14 日

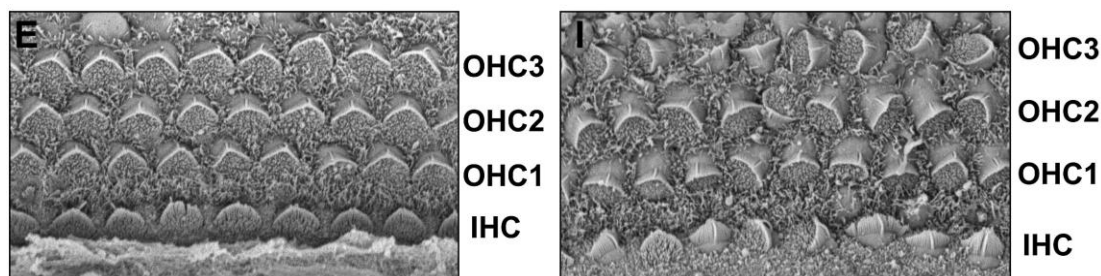
脊索動物の初期発生では中胚葉から脊索と呼ばれる構造が出来て体軸を規定する。胚発生ではこの脊索によって定められた体軸による方向性をもとに正しい位置に正しい組織・器官が形成され、この制御は胚発生において極めて重要な役割を持つ。今回山元進司研究員(胚誘導研究チーム、佐々木洋チームリーダー)は、この脊索に発現する遺伝子をスクリーニングし、脊索特異的な発現パターンを分子 Cthrc1 を同定した。さらに、この Cthrc1 が多様な Wnt 経路のうち平面内極性に関与する Wnt/PCP 経路を選択的に活性化し、内耳の有毛細胞の配向パターンを始めとする組織形成に関与していることを明らかにした。この研究成果は *Developmental Cell* 誌7月号に発表された。

Wnt 経路は *C.elegans* からヒトまで広く保存された分泌型のシグナル因子であり、胚発生において時間および位置特異的に発現し形態形成誘導因子、細胞極性決定因子、増殖分化調節因子など多様な機能を持つ。Wnt 経路のうち最も良く知られているのは Wnt レセプターの一つである Frizzled から β -catenin を介して転写因子 TCT/LEF を活性化する経路 (canonical Wnt pathway) であり、体軸形成などに関与する。この経路以外の non-canonical Wnt pathway は二種類存在し、それぞれ Wnt/Planar cell polarity(PCP:平面内極性、平面内の軸にそった極性)経路と Wnt/Ca²⁺経路と呼ばれている。Wnt/Ca²⁺経路に関しては未だ不明の点が多いが、Wnt/PCP 経路は Rho とその下流の ROCK、及び Rac1 その下流の JNK 活性化を通してアクチン重合を制御する。この経路は特に原腸形成や、内耳コルチ器にある有毛細胞の繊毛が正しい位置と方向性を持って並ぶために必要な経路であることが知られている。canonical か、noncanonical か、どちらの Wnt 経路を選択的に活性化する制御機構は未だ不明の部分が多かった。canonical Wnt に属する Wnt1、Wnt3a、Wnt8 は Frizzled のコレセプターとして LRP5、LRP6 を用いシグナルを伝える。一方 noncanonical Wnt に属する Wnt5a、Wnt11 経路のコレセプターには Ror2 がある。canonical Wnt と noncanonical Wnt のどちらが活性化されるかはこれらのコレセプターの影響が大きい。

山元研究員らはマウス胚の発生過程において遺伝子スクリーニングを行った結果、脊索及び内耳において極めて特異的に発現する分子 Cthrc1 を同定した。Cthrc1 は血管が障害されると発現上昇し細胞が移動しやすい状況を作るための分泌性の糖タンパク質であることが知られている。胚発生に伴う形態形成では分泌性シグナル分子を介した相互作用が細胞間のコミュニケーションの1つの方法として広く使用されている。山元研究員は Cthrc1 のマウス胚における脊索、内耳特異的な発現パターンに加え、分泌因子でもあることからこの分子に着目して研究を進めた。

Cthrc1 ノックアウトマウスは特に異常を示さなかったが、山元研究員はその特徴的な発現パターンから Wnt/PCP 経路に関与する可能性を考え解析を進めた。その結果、同じく平面内極性に関与する遺伝子 Vangl2 のヘテロ変異体と Cthrc1 ノックアウトマウスを掛け合わせると、中脳領域で神経管閉鎖不全がおこるなど平面内極性に支障を来している場合の特徴的な表現型を示した。また、同じく平面内極性が深く関与する内耳蝸牛管内にあるコルチ器の有毛細胞も、細胞自体の形成には問題ないものの、本

来あるべき方向性を持った配毛パターンが見られなかった。

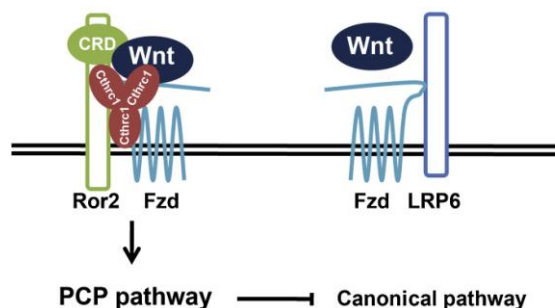


マウス胚の内耳蝸牛管のコルチ器基底部(基底回転)
 左) Cthrc1 ヘテロノックアウト; Vangl2 ヘテロミュータント
 右) Cthrc1 ホモノックアウト; Vangl2 ヘテロミュータント
 Cthrc1 を完全に欠損し且つ Vangl2 ミュータントのマウス(右写真)では有毛細胞が定まった方向を向かずバラバラな配向パターンを示す。これは平面内極性が失われている典型的な表現系である。

更に山元研究員らは co-culture IP 法という新しく開発した免疫沈降法を用いて詳しい解析を進めた。この方法は Wnt などの分泌性因子とレセプターの結合を解析することが出来る。その結果 Cthrc1 は noncanonical Wnt 経路のコレセプターである Ror2 と結合して Wnt/PCP 経路を活性化し、組織の平面内極性に関与することが分かった。Cthrc1 は Ror2 のみならず Wnt 及び Frizzled にも結合することから、Wnt-Frizzled-Ror2 間の結合性を促進し、Wnt/PCP 経路を活性化していると考えられる。また、Cthrc1 は canonical Wnt 経路のコレセプターである LRP5、6 とは結合しないことから、noncanonical Wnt 経路のみを選択的に活性化することが示唆された。

Wnt 経路はコレセプターや下流の因子のバリエーションにより様々な場面で多様な機能を持つ。しかし Wnt がいかにしてコレセプターを選びそのバリエーションを生むのかは分かっていなかった。今回の研究で山元研究員らは Cthrc1 が Ror2 に結合し Wnt/PCP 経路を選択的に活性化することを解明し、Wnt による多様な機能が如何に制御されているのか、その機構の一つが明らかになった。

一方で Cthrc1 のノックアウトマウスが目立った異常を見せないことから、佐々木チームリーダーは「私たちは、Cthrc1 の機能を補完する遺伝子がほかにも存在するのではないかと考えており、そのような因子を同定し、その機能を解析してゆくことが、多様な機能を持つ Wnt の作用の制御機構を理解するには必要だろうと考えています。」と語る。今後 Wnt シグナル経路が時間的、空間的に如何に制御されているのか明らかになることが期待される。



Cthrc1 が Wnt/PCP 経路を選択的に活性化するモデル図
 Cthrc1 存在下では Fzd-Wnt-Ror2 の複合体が安定化し Wnt/PCP 経路が活性化される。一方 Canonical Wnt の経路は Cthrc1 がコレセプターに結合出来ないためこの現象は起こらない。